この添付文書をよく読んでから使用ください。
体外診断用医薬品
B1017-165

2015年3月作成（第1版）

**MicroScan**

承認番号：21800AMX10890000

クラスⅢ細菌検査用シリーズ

# マイクロスキャン Rapid plus Neg Ⅱ シリーズ ID4

培養同定・一般細菌キット
ID4

## ［全般的な注意］

- 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- 本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状、その他関連する検査結果等と合わせて総合的に判断ください。
- 添付文書に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- 微生物感受性分析装置マイクロスキャン各機器の取扱説明書をよく読んでください。
- 下記の包装状態にあるパネルは使用しないでください。
  a. パウチの中にデシカント（吸湿剤）がなかったり、又はデシカントの袋が破れているもの。
  b. パネルの包装状態が不完全なもの（パウチのシーリングが不完全なものや、穴・裂目があるもの等）。

## ［形状・構造等（キットの構成）］

1. 試験管理部

| 構成試薬名（ウェル） | |
|---|---|
| LOC | ロケーションウェル<br>（微生物感受性分析装置マイクロスキャンWalkAway各機器用パネル識別ウェル） |

2. 同定試験部：構成製品 ID4

| 構成試薬名（ウェル） | 成分名 |
|---|---|
| AARG | L-アルギニル-L-アルギニン-AMC-三塩酸塩 |
| AGAL | MeU-α-D-ガラクトピラノシド |
| AGL | MeU-α-D-グルコピラノシド |
| ALAR | MeU-α-L-アラビノピラノシド |
| ARG | L-アルギニン-AMC-二塩酸塩 |
| BGAL | MeU-β-D-ガラクトピラノシド |
| BGL | MeU-β-D-グルコピラノシド |
| BGLR | MeU-β-D-グルクロニド |
| CHB | MeU-β-D-N,N'-ジアセチルチトビオシド |
| DCB | 4-メチルエスクレチン |
| DGA | D-グルコン酸カリウム塩<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| FRU | 果糖<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| GAL | D(+)-ガラクトース<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| GGA | N-グルタリル-グリシル-アルギニン-AMC |
| GGLT | γ-L-グルタミン酸-AMC |
| GLPR | グリシル-L-プロリン-AMC-臭化水素塩 |
| GLU | ブドウ糖<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| GLY | グリシン-AMC-臭化水素塩 |
| GLYC | グリセロール<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| KETO | 5-ケト-D-グルコン酸カリウム塩<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| LAC | α-ラクトース一水和物<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| LYS | L-リジン塩酸塩<br>4-メチルエスクレチン |
| MAN | D-マンニトール<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| NAG | MeU-N-アセチル-β-D-グルコサミニド |
| NGAL | MeU-N-アセチル-β-D-ガラクトサミニド |
| ORN | L-オルニチン塩酸塩<br>4-メチルエスクレチン |
| PHO1 | MeU-リン酸ニナトリウム |
| PHO2 | MeU-リン酸ニナトリウム |
| PRO | L-プロリン-AMC |
| PYG | L-ピログルタミン酸-AMC |
| SOR | D-ソルビトール<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| SUC | サッカロース<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| TRE | α-トレハロース二水和物<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |
| TRYP | L-トリプトファン-AMC-塩酸塩 |
| TYR | L-チロシン-AMC |
| URE | 尿素<br>4-メチルウンベリフェロンナトリウム |

MeU：4-メチルウンベリフェリル
AMC：7-アミド-4-メチルクマリン

## ［使用目的］

生体由来の試料から分離されたグラム陰性細菌の同定

## ［測定原理］

本品によるブドウ糖発酵及びブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の同定には蛍光基質及び蛍光指示薬が利用されています。同定は、微生物感受性分析装置 マイクロスキャンWalkAway各機器による35℃、2.5時間の培養後の、蛍光基質の加水分解による蛍光強度変化、及び特定基質を利用した中間代謝物の生成によるpH変化を基礎としています。本パネルは試薬を使用しません[1-11]。
各同定試験部の反応原理は次の通りです。

- 尿素（URE）
  尿素はウレアーゼにより分解されアンモニアと二酸化炭素になります。その結果、pHが上昇し、それが蛍光pH指示薬により検出されます。
- 蛍光反応（AGAL, AGL, ALAR, BGAL, BGL, BGLR, CHB,

NAG, NGAL, AARG, ARG, GGA, GGLT, GLPR, GLY, PRO, PYG, TRYP, TYR, PHO1, PHO2）
各基質に対応する酵素が存在した場合、基質複合体は分解され、蛍光物質である4-メチルウンベリフェロン又は7-アミド-4-メチルクマリンが遊離します。その結果、蛍光強度が上昇します。

・炭水化物の発酵（DGA, FRU, GAL, GLU, GLYC, KETO, LAC, MAN, SOR, SUC, TRE）
特定の炭水化物が発酵することにより酸が形成されます。その結果、pHが低下し、蛍光pH指示薬により検出されます。

・脱炭酸（DCB, LYS, ORN）
これらのアミノ酸の脱炭酸反応により、塩基性アミンが形成されます。その結果、pHが上昇し、蛍光pH指示薬により検出されます。DCBはコントロールとして使用されます。

・蛍光反応率（AAR2, ARG2, GLY2, ONB, ORN2, TYR2）
各々 AARG、ARG、GLY、ORN、ORN、TYRウェルから得られる情報が2次的処理を受けて求められるデータが、陽性／陰性反応の決定に使用されます。

## ［操作上の注意］

測定試料の性質・操作法

・「*Manual of Clinical Microbiology*」で推奨されている方法に従って検体を採取、運搬し、分離培養を行ってください[7]。
・分離培養には5%ヒツジ血加TSA寒天培地を使用ください。

## ［用法・用量（操作方法）］

1. 必要な器具・器材・試料等（品目コード）
カバートレイ（B1010-56B）
イノキュラム生理食塩水 6.5mL
（PLURONIC＊含有）（B1015-11）
希釈水 25mL（PLURONIC＊含有）（B1015-7）
リノック（B1018-14）
ラピッド用イノキュレーター（B1013-6）
微生物感受性分析装置 マイクロスキャン WalkAway各機器
トレーリッド（B1018-18）
バーコードラベル（バーコードプリンター用）
（B1018-129）
バーコードプリンター
精度管理用菌株
5%ヒツジ血加TSA寒天培地
0.5 McFarland濁度標準液
濁度計
100μL用ピペット及び滅菌チップ
ボルテックスミキサー
その他、検査室の一般的な器具
＊PLURONIC界面活性剤はBASF社の登録商標です。

2. 測定（操作）法
1）パネルの準備
（1）本品を保管場所から取り出します。包装が不完全な場合は使用しないでください（シーリングが不完全なもの、穴・裂け目があるもの等）。
（2）パウチを開封しパネルを取り出します。冷蔵庫に保管したパネルは、パウチを開封後直ちにパネルを取り出します。
（3）パネルは溶解する前に常温に戻します。パネルの上部に清潔なカバートレイを置いて重ねてください。

2）菌液の調製
（1）5%ヒツジ血加TSA寒天培地で18～24時間培養した分離培地から、単離した形態学上同一と思われるコロニーのうち、大きいものなら4～5個、小さいものなら5～10個のコロニーを滅菌綿棒あるいは白金耳を用いて釣菌します。
（2）6.5mLのイノキュラム生理食塩水に採取した菌を懸濁します。
（3）釣菌に用いた滅菌綿棒又は白金耳を試験管の側面にこすりつけて、釣菌が均一になるようにします。これにより細菌が塊となるのを防ぎ、ムコイド状の生育を分散します。
（4）蓋をしっかり閉め、2～3秒ボルテックスミキサーで撹拌します。
（5）最終菌液濁度が0.5 McFarlandになるように菌液を調製し、濁度計で確認します。0.08±0.02 (0.06～0.10) の範囲内で調整ください。
（6）ボルテックスミキサーで撹拌した後、この菌液を同定試験部にそのまま用います。

3）パネルの溶解／分注
（1）パネルの溶解及び菌液の分注はリノック及びラピッド用イノキュレーターで行います（詳細はリノック取扱説明書を参照ください）。その他のシステムを使用する場合は、パネルの各ウェルに115±10μLの菌液を分注して、ウェル中の最終菌液濃度を最適にします（同定は、1.5×$10^8$ CFU/mLが最適な濃度です）。菌の生育力及び純度を確認するため、被検菌液を確認用培地で16～20時間培養ください。2つ以上のタイプのコロニーが培地上に存在するときは、コロニーを再分離して再テストを行ってください。
（2）ラピッド用イノキュレーターの使用
a. ラピッド用イノキュレーターのトランスファーリッドを外します。
b. 同定部（3列）に調製した菌液を注ぎます。
c. その他の部分に菌を懸濁していない希釈水 25mLを注ぎます。
d. トランスファーリッドをかぶせてリノックを取り付けます（詳細はリノック取扱説明書を参照ください）。

4）培養
（1）各パネルに微生物感受性分析装置マイクロスキャンWalkAway各機器用のバーコードラベルを貼り、トレーリッドをかぶせます。
（2）パネルを分析装置の空いているスロットに入れます。詳細は各機器の取扱説明書を参照ください。
（3）パネルは読み取り前に、2.5時間培養されます。

5）精度管理
既知の反応を示す精度管理用菌株を用いて、同定試験項目及び薬剤の結果が許容範囲内であることを確認ください。
同定簡易精度管理
同定簡易精度管理試験では、CLSI M50-Aに基づいて下記基質を確認します[12]。事前にCLSI M50-Aドキュメントを参照し、詳細を確認ください。

| 精度管理用菌株 | 確認基質 | 規格 | 規格外 | 確認する点 |
|---|---|---|---|---|
| *E. faecalis* ATCC29212 | PHO2 | － | ＋ | 製品性能 |
| *E. aerogenes* ATCC51697 | GAL | ＋ | － | 試験手技 |
| *P. aeruginosa* ATCC27853 | DCB | ＋ | － | 試験手技 |
| *P. aeruginosa* ATCC27853 | GLYC | － | ＋ | 試験手技 |

## [測定結果の判定法]

1. パネルの読み取り
微生物感受性分析装置マイクロスキャンWalkAway各機器により、同定基質の反応は2.5時間培養したのち読み取られます。各ウェルの蛍光強度の変化から陽性及び陰性を判定します。詳細は各機器の取扱説明書を参照ください。

注）本パネルは微生物感受性分析装置 マイクロスキャン WalkAway各機器システムでのみ読み取ることができます。

2. 同定方法
データマネージメントシステム（LabPro ver.3.0以上）、及び微生物感受性分析装置マイクロスキャンWalkAway各機器のソフトウェアには同定に使用する陽性率表が含まれています。機器により読み取られた同定基質のデータは15桁のバイオタイプナンバーに変換され、蓄積されたグラム陰性菌のデータベースと比較されます。相対確率（最高99.99%）の高い順に上位5つの菌名がリストアップされます。

3. 判定上の注意
- 相対確率が低い場合（＜85%）は、追加試験による確認が必要です。
- バイオタイプナンバーを同じ患者の別試料から得られた分離株の表現型（フェノタイプ）の同定に用いることはできません。
- 同定試験はMIC値を決定する際に重要となる場合があります（S・I・Rのカテゴリーやブレイクポイントの決定、菌特有の測定限界等）。同定結果が疑わしい場合には追加試験による確認が必要です。
- 最終的な検査結果の判定には、細菌の専門知識のある臨床検査技師による判断が必要です。
- $CO_2$下で培養した場合、*E. faecalis* ATCC 29212を試験するとAARGが陽性反応を示すことがあります。

## [性能]

1. 性能
1）感度／正確性：管理用菌株として次のアメリカンタイプカルチャーコレクション標準菌株（ATCC株）を用いて試験を行うとき、各同定基質の陽性／陰性反応が明確に識別できます。

| | |
|---|---|
| *E. coli* | ATCC25922 |
| *K. oxytoca* | ATCC49131 |
| *S. putrefaciens* | ATCC49138 |
| *P. vulgaris* | ATCC49132 |
| *E. aerogenes* | ATCC51697 |
| *P. aeruginosa* | ATCC27853 |
| *E. faecalis* | ATCC29212 |
| *E. cloacae* | ATCC49141 |

2）同時再現性：感度／正確性試験と同様に操作して試験を3回行うとき、同一の成績を示します。

2. 相関性

| 比較法 | 一致率（%）＊ |
|---|---|
| マイクロスキャン Rapid Neg ID Type 3 | 97 |
| マイクロスキャン Neg シリーズ ID | 98 |

＊菌種レベルでの一致率

## [使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上（危険防止上）の注意
- すべての操作において無菌操作及びバイオハザードに対する注意を遵守し、特に菌液を分注したパネルは病原性微生物を含む可能性があるものとして慎重に取り扱ってください。
- これまでのところ、使用されている蛍光基質に発癌性があるというデータはありません。

2. 使用上の注意
- 指定された貯法以外で貯蔵された製品は、同定基質の加水分解を招きますので、貯法を守り、使用期限内に使用ください。
- パネル開封後はすみやかに使用し、開封当日に使用しない場合は廃棄ください。

3. 廃棄上の注意
- 測定に使用したものは廃棄前に必ずオートクレーブにかけてください。また、残った試薬や検体を廃棄する場合には、医療廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して処理ください。

## [貯蔵方法・有効期間]

貯蔵方法：2 ～ 25℃
有効期間：12 ヶ月

## [包装単位]

20 パネル（1箱）

## [主要文献]


1. Bascomb, S. 1987, Enzyme tests in bacterial identification. Methods Microbiol. 19:105.
2. Bradbury, J.M. 1977. Rapid biochemical tests for characterization of the Mycoplasmatale. J. Clin. Microbiol. 5:531.
3. Eng, P.C.S., and P. A. Hartman. 1982. Fluorogenic assays for immediate confirmation of Escherichia coli. Appl Environ. Microbiol. 43:1320.
4. Godsey, J.H., M.R. Matteo, D. Shen, G. Tolman, and J.R. Gohlke. 1981. Rapid identification of Enterobacteriaceae with microbial enzyme activity profiles. J. Clin. Microbiol. 13:483.
5. Grange, J.M., and K. Clark. 1977. Use of umbelliferone derivatives in the study of enzyme activities of mycobacteria. J. Clin. Pathol. 30:151.
6. Kilian, M., and P. Bulow. 1976. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. 1. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 84:245.
7. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller (eds), 2007. Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.
8. Peterson, E.H., and E.J. Hsu. 1978. Rapid detection of selected Gram-negative bacteria by aminopeptidase profiles. J. Food Sci. 43:1853.
9. Slifkin, M., and G.M. Gill. 1983. Rapid biochemical tests for the identification of groups A, B, C, F and G streptococci from throat cultures. J. Clin.

Microbiol. 18:29.
10. Smith, R.E., E.R. Bissel, A.R. Mitchell, and K.W. Pearson. 1980. Direct photometric or fluorometric assay of proteinases using substrates containing 7-amino-4-trifluoromethylcoumarin. Thrombosis Research. 17:393.
11. Watson, R.R. 1976. Substrate specificities of aminog\peptidases: a specific method for microbial differentiation. Methods Microbiol. 9:1.
12. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. 2008. CLSI Document M50-A. Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI, Wayne, PA.

［問い合わせ先］

ベックマン・コールター株式会社
お客様サポートセンター
TEL 0120-566-730 または 03-6745-4704

［製造販売元］

ベックマン・コールター株式会社
東京都江東区有明三丁目5番7号
TOC有明ウエストタワー